

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg

Direktor: Prof. Dr. med. M. Schwaiger

und

aus dem Institut für Strahlenbiologie und medizinische
Isotopenanwendung der Universität Marburg

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. E. H. Gaul

Phagocytoseversuche am Kaninchen nach Vorbehandlung mit Cortison und 6-Mercaptopurin

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Lieselotte Blome

aus Bad Oeynhausen, Krs. Minden

Marburg 1968

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik in Marburg

Direktor: Prof. Dr. med. M. Schwaiger

und

aus dem Institut für Strahlenbiologie und medizinische
Isotopenanwendung der Universität Marburg

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. E. H. Gaul

Phagocytoseversuche am Kaninchen nach Vorbehandlung mit Cortison und 6-Mercaptopurin

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Lieselotte Blome

aus Bad Oeynhausen, Krs. Minden

Marburg 1968

Fotodruck von Erich Mauersberger in Marburg

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 18.6.68

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof.Dr.med.R.Siegert

Réferent: Prof.Dr.med.H.-J.Streicher

Correferent: Prof.Dr.med.Dr.rer.nat.E.H.Graul

I n h a l t s v e r z e i c h n i s

=====

	Seite
A. E i n l e i t u n g	1
B. P r o b l e m u n d F r a g e s t e l l u n g	2 - 5
Immunsuppressiva zur Dämpfung der Transplantation- reaktion; Wirkung von Cortison und 6-Mercaptopurin auf Phagozytose und Antikörper- bildung	
C. R E S u n d F u n k t i o n s p r o b e n d e s R E S	6 - 20
<u>I. Das RES</u>	6 - 15
a) Morphologie	6 - 8
b) Funktion	8 - 15
RES als Teil des Abwehrsystems	6 - 10
Antikörperbildung	9 - 10
Phagozytose: 1) Migration	11 - 15
2) Inkorporierung	
3) Fermentativer Abbau	
4) Phagozytoseblockade	
5) Phagozytosefördernde Serumfaktoren	
<u>II. Funktionsproben des RES</u>	16 - 20
Phagozytoseversuche:	
a) Histologie	16
b) Indirekte Erfassung des RES mittels Blutclearance	16 - 19
c) Direktmessung über der Leber	19 - 20
D. E i g e n e V e r s u c h e	
<u>I. Vorversuche:</u> Leukozytenzählung nach Medikation	21
<u>II. Hauptversuch:</u>	
1) Vorbehandlung der Tiere; Dosierungsschema für Cortison und 6-MP	22

2) Methodik	23 - 25
a) Herstellung der Testsubstanz	
b) Versuchsanordnung	
1. Blutaktivitäten	
2. Aktivitätsanstieg über der Leber	
3. Aktivitätsabfall über der Leber	

<u>III. Versuchsergebnisse:</u>	26 - 52
1. Blutaktivitäten	26
2. Aktivitätsanstieg über der Leber	27 - 42
3. Aktivitätsabfall über der Leber	43 - 52

<u>IV. Diskussion der Ergebnisse</u>	53 - 54
--------------------------------------	---------

<u>V. Zusammenfassung</u>	55
---------------------------	----

A. Einleitung
=====

In den vorliegenden Versuchen wird der Einfluß von Cortison und 6-Mercaptopurin auf die Phagocytose des RES am Kaninchen untersucht.

Die Tiere werden mit verschiedenen Medikamentendosen vorbehandelt. Als Phagocytosetestsubstanz dient hitzedenaturiertes, ^{131}J -markiertes Humanalbumin mit definierter Teilchengröße und -anzahl, das nach einer modifizierten Methode von BENACERRAF u. Mitarb. (1955) hergestellt wird.

Nach Injektion der Testsubstanz erfolgt die Messung nach der von HESS (1960) angegebenen Direktmethode durch Aufsetzen eines Scitillationsmessers mit Bleikollimator auf die Lebergegend. Der Aktivitätsanstieg über der Leber wird 30 Min. lang mittels Direktschreiber aufgezeichnet. Anschließend wird der Aktivitätsabfall über 48 Stunden gemessen.

B. PROBLEM UND FRAGESTELLUNG
=====

Eine medikamentöse Beeinflussung des RES ist meist im Sinne einer Hemmung erwünscht, zum Beispiel, wenn es gilt, allergische oder hyperergische Reaktionen zu mildern oder ihnen vorzubeugen. Cortison wird zu diesem Zweck seit langem in der Inneren Medizin und ihren Randgebieten angewandt. In der Chirurgie scheitert das Angehen von Homotransplantaten immer wieder an Immunisierungsvorgängen, ausgelöst durch Histoinkompatibilitätsantigene, wobei es hauptsächlich zur Bildung zellgebundener Antikörper kommt. Wie man heute annimmt, sind diese Antikörper hauptsächlich an Lymphozyten gebunden (s. Seite 9).

Die Homotransplantationsreaktion bleibt nur aus bei genetischer Einheitlichkeit von Empfänger und Spender (eineiige Zwillinge) oder bei Menschen mit defektem Immunsystem (z. B. Agammaglobulinämie).

Durch temporäre Abschwächung des Immunitätssystems durch sogenannte Immunsuppressiva erhöhte sich die Überlebenszeit der Transplantate beträchtlich. In Kauf genommen wird dabei die Infektionsgefahr sowie die übrigen Nebenwirkungen der eingesetzten Medikamente. (zitiert n. ALLGÖWER, 1966)

Als Immunsuppressiva wurden eingesetzt:

Röntgenstrahlen

Corticoide

Cytostatica:

6-Mercaptopurin (Purinantagonist)
Aminopterin (Folsäureantagonist)
Azathioprin
Cyclophosphamid (Endoxan^R)

Hinsichtlich der Wirkung auf das RES durch die zu untersuchen-
den Medikamente Cortison und 6-Mercaptopurin

fanden frühere Autoren:

I. nach Cortisongabe:

=====

a) immunologisch:

Verminderte Antikörperbildung (TALIAFERRO, 1957;
FRIEBEL, 1952)

Senkung der Gammaglobulinfraktion (WARDER, 1957)

Sinkender Opsoninindex (BLANCHARD, 1931; VOLDICELLI, 1951)

Keine Verminderung der Immunkonglutininbildung

bei Kaninchen (INGRAM, 1962)

MOESCHLIN (1952) kommt nach tierexperimentellen Untersuchungen zu dem Schluß, daß ACTH und Cortison die Antikörperbildung nicht direkt hemmen, sondern daß sie bei protrahierter Gabe durch eine Hemmung der Bakterienspaltung in spezifische Antigene eine sekundäre Verminderung der Antikörperbildung bedingen.

b) Phagozytoseuntersuchungen brachten unterschiedliche

Resultate:

1) keine Änderung der Phagozytose fanden GAMBLE u. HETTING (1952) nach Tuscheinjektion; FRIEBEL, H. (1952) nach Tusche- u. Trypanblauinjektion; HORVATH, E. (1957) nach intraperitonealer Injektion von Methylcellulose und histologischer Auswertung;

2) eine Phagozytosehemmung fanden

BENACERRAF u. Mitarb. (1954): Cortison hemmt die Rückkehr zum normalen Phagozytoseindex nach Kohlesättigung;

NÖLLER, H.G. (1956): Chromsilberphosphat (P^{32})-und

Silberjodid (^{131}J)-Clearance;

- CRABBE, J. (1955): histologische Untersuchungen an
Pleuramakrophagen des Kaninchen;
SPAIN, D.M. u. Mitarb. (1950 u. 1952) zit. n. CRABBE
BARBEA, M. DELAUNAY (1951) zit. n. CRABBE
HELLER, J.H. (1955): kolloidales $\text{CrP}^{32}\text{O}_4$ als Testsubstanz
FRIMMER, M., PFLEGER, K. (1953): Clearance von P^{32} -
markiertem Polymetaphosphat
3) eine gesteigerte Phagozytose fanden:
LURIE, M.B. u. Mitarb. (1951) zit. n. CRABBE
TAUBENHAUS, M., AMROMIN (1950) zit. n. CRABBE

II. nach 6-Mercaptopuringabe:

=====

Immunologisch:

Hemmung der Antikörperbildung gegen lösliche Eiweißantigene beschreiben SCHWARTZ, STACK, DAMASHEK (1958) und SCHWARTZ, EISNER, DAMASHEK (1959). Es entwickelt sich ein Toleranzzustand für die Zweitinjektion. LA PLANTA (1962) sah die zweite immunologische Antwort verhindert, wenn er nach der zweiten Antigenstimulation 10 Tage lang 6-MP (15mg/kg/die) gab. Nach INGRAM (1965) verhindert 6-MP die Bildung von Antikörpern und Immunkonglutininen. Die Bildung der komplementbindenden Antikörper gegen Adenoviren wird bei Kaninchen, nicht bei Meerschweinchen gehemmt (TOIVANEN, 1965). BOREL, J. (1965) stellt eine verzögerte Bildung der 19S- u. 7S-Antikörper bei Mäusen und Kaninchen nach Immunisierung mit fremden Erythrozyten fest. Über den Einfluß auf die Phagozytose fanden sich keine Angaben.

Da 6-MP heute als eines der wichtigsten Immunsuppressiva eingesetzt wird, z. B. nach Nierentransplantationen, und Cortison eine so ausgedehnte Anwendung in der Medizin findet, ist es von großer Bedeutung, nähere Aufschlüsse über die Wirkung dieser Medikamente auf Teilfunktionen des RES zu erhalten; einmal mag dies der Aufklärung des Wirkungsmechanismus, zum anderen der Erfassung von Nebenwirkungen dienen. Unter den Nebenwirkungen spielten Veränderungen der Phagozytose eine nicht unerhebliche Rolle, vor allem wegen der Störungen der Abwehrfunktion.

C. DAS RES UND FUNKTIONSPROBEN DES RES

=====

I. DAS RES

=====

a) Morphologie:

Nach Entdeckung der Phagocytose durch METSCHNIKOFF (1883) gelang RIBBERT (1904) erstmalig die Darstellung eines speichernden Zellsystems durch Vitalfärbung mit Lithiumkarmin. KIYONO (1914) gab nach umfangreichen Farbstoffversuchen eine Aufstellung der Gewebszellen nach dem Grad ihrer Speicherung.

Alle gut speichernden Zellen dieser Aufstellung KIYONOS faßte ASCHOFF (1924) unter dem Begriff R e t i c u l o - E n d o t h e l i a l e s S y s t e m (RES) zusammen; erst bei großem Farbstoffangebot speichernde Zellen, wie Fibrocyten und Gefäßendothelien schließt ASCHOFF bewußt vom RES aus, da die Phagocytose vom Angebot der Speichersubstanz abhängig ist und bei großem Angebot selbst Epithelien phagocytieren (= Athrocytose).

Zum "RES im engeren Sinne" zählt ASCHOFF:

- 1) Reticulumzellen in Milzpulpa und lymphatischem Gewebe
- 2) Sinuszellen von Knochenmark, Milz und Lymphknoten
- 3) v. KUPFFER'sche Sternzellen der Leberkapillaren

Zum "RES im weiteren Sinne" zählt er:

- 4) Histozyten
- 5) Monozyten

Spätere Autoren rechnen auch die Sinusendothelien von Hypophysenvorderlappen und Nebennierenrinde zum RES (BARGMANN).

Formulierte ASCHOFF das RES bewußt als Funktionseinheit eines über den Gesamtorganismus verteilten Zellsystems, versuchten spätere Forscher auch die morphologische Einheit darzustellen. Nach FREESEN (1946 u. 1954) sind die Retikulumzelle und das argyrophile Fasernetz als morphologisches Strukturmerkmal anzusehen, das sowohl bei reaktiven als auch bei entzündlichen und neoplastischen Prozessen gewahrt bleibt.

Die Retikulumzellen sind nach FREESEN verästelte, miteinander verbundene Zellen mit hellem, unstrukturiertem Plasma und relativ großem, kurzovalem, chromatinarmem Kern. Entgegen dem lichtmikroskopischen Eindruck sind elektronenmikroskopisch Zellgrenzen nachweisbar.

FREESEN gliedert das RES wie folgt:

- A. Retikulumzellige Komponente: (Retikulumzelle + typisches Gitterfasernetz (Milzpulpa, Lymphknoten)
- B. Endothelartige Komponente: endothelartig gelagerte Retikulumzellen bilden die Wand der sog. SINUSOIDE* in Milz, Leber, Lymphknoten und Knochenmark
- C. Histiocyten: = mobile Retikulumzellen
- D. Monocyten: retikulogene weiße Blutzelle. Die bekannte monocytäre Reaktion bezeichnet FREESEN als "hämatologischen" Ausdruck einer Aktivierung des RES. Die Monocytenleukose ist eine Retikuloze.
- E. Plasmazelle: = plasmazellige Retikulumzelle (ROHR 1940)

*SINUSOIDE sind durch das Fehlen der Basalmembran ausgezeichnet, die Wände bestehen aus Retikulumzellen. Im Gegensatz dazu bestehen venöse SINUS aus Basalmembran + Endothel. In NNR u. HVL gibt es nach FREESEN nur Sinus, deren Endothel er nicht zum RES zählt.

In dem Bestreben, das mißverständliche Wort Endothel ganz auszuschalten, schlug FREESEN den Begriff RETOTHELIALES SYSTEM vor, der sich gegen den allgemein eingebürgerten Begriff RETICULOENDOTHELIALES SYSTEM aber nicht durchzusetzen vermochte.

Die Zellen A - D können sich in Makrophagen umwandeln; nach FREESEN und WELLENSIEK setzt die Transformation zum aktiven Phagen mit einer Zunahme von Mitochondrien und der Vermehrung von Ergastoplasma und Vakuolen ein. Die Plasmazelle phagozytiert nie, sie ist der Ort der Antikörper- und Plasmaeiweißbildung.

Die Retikulumzellen entstehen wie die Blutzellen aus dem embryonalen Mesenchym. Der gemeinsame Ursprung kann sich auch postnatal dokumentieren; so findet die extramedulläre Erythropoese in den Sinusoiden der Leber und Milz statt; auch eine extramedulläre Granulopoese in den Sinusoiden (APITZ) und in der adventitiellen Keimschicht (HERZOG) ist möglich. Tierexperimentelle Untersuchungen lassen auf die Entwicklung der Lymphocyten aus dem retikulären Stroma schließen (AMANO, GRUNDMANN), jedoch ist das Stroma bei lymphatischen Leukosen nicht beteiligt.

b) Funktion:

Die Hauptfunktionen des RES sind:

- 1) die Phagocytose durch phagocytierende Retikulumzellen
(= Makrophagen)
- 2) die Antikörperbildung und Bildung der Plasmaeiweißkörper
in der Plasmazelle

Das RES gehört wie die Leukocyten zum Abwehrmechanismus.

Beide Systeme sind ohne Organgrenzen über den Organismus verteilt, im Abwehrdienst ergänzen sie sich. Bei einer Infektion beherrschen die neutrophilen Leukocyten, ausgezeichnet durch passive (Blutstrom) und aktive Mobilität, die akute Situation,

indem sie die eingedrungenen Bakterien phagocytieren (Mikrophagen) und unspezifische Entzündungszeichen (Fieber, Vasodilatation durch Freisetzung proteolytischer Fermente und konsekutiver Histamin- und Polypeptidliberation) hervorrufen. Den Makrophagen des RES obliegt dann die Abräumung des Detritus sowie die Aufspaltung der Bakterien in spezifische Antigene, wonach die Antikörperbildung in der Plasmazelle induziert wird (EHRICH, 1950). Andererseits ist die Bakterienphagocytose von spezifischen und unspezifischen Serumfaktoren abhängig (s.S.14). Plasmazelle und phagocytierende Retikulumzelle wirken also synergistisch. Die Tatsache, daß Zerstörung von Lymphozyten durch Bestrahlung die Antikörperbildung unterdrückt, falls sie vor Einverleibung des Antigens gegeben wird, später aber unwirksam ist, spricht dafür, daß diese Zellart bei den einleitenden Vorgängen der Antikörperbildung beteiligt ist (EHRICH 1956). Cortison wirkt lymphocytolytisch und in höheren Dosen plasmacytolytisch, woraus sich vielleicht die verminderte Antikörperbildung nach Cortison erklärt (EHRICH 1956). Bei den Reaktionen mit zellgebundenen Antikörpern spielen die Lymphocyten eine große Rolle. So ist die Allergie vom verzögerten Typ durch mononukleäre Leukozyten übertragbar. Die Tuberkulinreaktion, die bei der Agammaglobulinämie im allgemeinen auslösbar ist, bleibt bei den besonders dubiosen lymphocytopenischen Formen negativ.

Die Mitwirkung der Lymphocyten bei der Homotransplantationsreaktion beschreibt ALLGÖWER (1966) folgendermaßen:

Die Umstimmung des Wirts setzt in dem Moment ein, wo Lymphanastomosen entstehen. Vermutlich sind die Endothelzellen des

Transplantats für die Wirtslymphocyten antigen wirksam. Die Lymphocyten führen entweder direkt oder indirekt zur Antikörperbildung in den Lymphknoten. Bei der Zerstörung des Transplantats sind es ebenfalls die in das Transplantat einwandernden Lymphocyten, welche in direktem Kontakt mit den Transplantatzellen die für die Abstoßungsreaktion verantwortlichen Antikörper abgeben. Im wesentlichen handelt es sich um zellgebundene Antikörper, die durch immunologisch kompetente Zellen des Lymphoretikulären Systems an das Transplantat herangebracht werden. Lymphocyten werden bevorzugt zur Histokompatibilitätstestung verwendet, da anzunehmen ist, daß sie auch beim Menschen sämtliche Transplantationsantigene besitzen (RAMSEINER 1966).

Der Unterschied zwischen der unspezifischen Granulozytenfunktion und der differenzierteren RES-Funktion ist am histologischen Bild der Entzündung abzulesen:

so beherrschen die neutrophilen Granulozyten das monomorphe Bild der akuten Entzündung; Histiozyten, Monozyten, Plasmazellen und Lymphocyten das der chronischen Entzündung und RES-Abkömmlinge wie Histiozyten, Epitheloidzellen und die verschiedenen Riesenzellen (= Symplasmen der Retikulumzellen) das der proliferierenden oder spezifischen Entzündung (= Granulom).

Auf die Teilfunktion Phagocytose soll näher eingegangen werden.

Phagocytose:

Bezüglich der Phagocytose durch Retikuloendothelien, die einer in-vivo- und in-vitro-Betrachtung nicht zugänglich ist, werden die gleichen Mechanismen angenommen, wie sie für Granulocyten gelten.

Der Vorgang der Phagocytose gliedert sich nach Ansicht vieler Autoren in mehrere Abschnitte:

- 1) Wanderung des Phagen in Richtung des Reizstoffes
- 2) Inkorporierung
- 3) Fermentativer Abbau

- zu 1) Die Wanderung des Phagen verläuft mit meßbarer Geschwindigkeit von 30-50 μ /min. (v. PHILLIPSBORN 1930; MC.CUTCHEON 1946, SIERACKI 1955). Diese Wanderung wird erklärt durch eine elektrophoretisch meßbare Minderung der Oberflächenspannung des Phagen (FRITZE 1953). Nach MUDD, MC.CUTCHEON u. LUCKE (1934) werden die Partikel mit einem Eiweißfilm überzogen und so die Spannung zwischen Partikel und Phagen reduziert. Als Eiweißfilm kommen die Opsonine (WRIGHT, 1956) und der "Phagocytose-promoting factor" (TULLIS u. SURGEROR, 1956; ALLGÖWER, 1949) in Betracht, die Beziehungen zum Gerinnungssystem haben. Phagocytosehemmung durch Antikoagulantien wie Heparin und Hirudin (v. JANSO, 1931) sowie durch Natriumcitrat (ALLGÖWER, 1947 u. 1949; DELAUNEY, 1944; WENDT, 1952) wurde beschrieben.
- zu 2) Die Inkorporierung erfolgt nach der Annäherung, wobei kleine Partikel schlagartig in das Plasma einsinken, größere erst umflossen werden. Migration und Inkorporierung werden von vielen Autoren als rein physikalisch-chemische Vorgänge angesehen (SAVCHENKO, 1910; MUDD, CUTCHEON, LUCKE, 1934; SIESS, 1953; FRITZE, 1956). Sie verlaufen als solche ohne erhöhten Sauerstoffverbrauch (ADO, 1933; BECKER u. FISCHER, 1957).

zu 3) Die fermentative Aufschließung der phagocytierten Substanz dagegen geht mit erhöhtem Sauerstoffverbrauch einher (BALDRIDGE u. GERARD, 1933; BECKER u. FISCHER, 1957). Sie ist eine aktive Stoffwechselleistung und setzt nach Ansicht vieler Autoren die Unversehrtheit der Zelle voraus, während die Inkorporierung auch bei geschädigten Zellen möglich ist.

Ein Hinweis dafür ist die Tatsache, daß phagocytierte Bakterien intrazellulär überleben und sich sogar vermehren können, wenn sie nicht durch Enzyme abgebaut werden (JAWETZ, MELNICK, ADELBERG, 1963). Tuberkelbakterien benutzen Phagen als Transportmittel (JAWETZ u.a. 1963). GORDON, COOPER u. MILLER (1955) beschreiben, daß die Blutclearance von injizierten *Klebsiella pneumoniae* bei bestrahlten Tieren während der ersten 4 Stunden fast so vollkommen war wie bei unbestrahlten Kontrolltieren. Von der 8. Stunde an stieg jedoch die Keimzahl im Blut bei bestrahlten Tieren wieder an, und die Tiere starben an einer Sepsis, während die Kontrolltiere überlebten. Für die Autoren ist das der Beweis dafür, daß das RES der bestrahlten Tiere wohl fähig war, die Keime zunächst aus dem Blut zu eliminieren, aber unfähig, sie zurückzuhalten und zu vernichten.

Einem enzymatischen Abbau fallen anheim:

Zellreste, Bakterien, Eiweißkolloidpartikel,
gealterte Erythrozyten und Metastasenzellen.

Nicht abbaufähige Substanzen bleiben in RES-Zellen liegen,
wie exogene (Anthrakose) und endogene (Hämosiderin)
Pigmente. Einige Stoffwechselkrankheiten werden
wegen massiver Ablagerungen im RES Speicherkrank-
heiten genannt (M.GAUCHER, M.NIEMANN-PICK, Cystin-
speicherkrankheit u.s.w.).

Die Bedeutung der Phagocytose- und Speicherfunktion des RES
wird bei der Erythroklasie besonders deutlich:

Die Phagocytose von Erythrocyten durch Milzmakrophagen
wurde erstmals von PREYER (1864) beschrieben. SCHUBOTHE
u. GROSS (1951) berichten, daß ein ganzer Erythrocyt in
10 min. vollständig phagocytiert sein kann, noch schneller
vollzieht sich die Phagocytose von Erythrocytenfragmenten.
MIESCHER (1956) betont, daß die Erythrocyten intakt phagocy-
tiert werden und das Hämoglobin erst in den Zellen frei
wird, wo dann das Eisen vom Hämoglobinmolekül abgespalten
und als Speicherformen Ferritin und Hämosiderin im RES
zurückgehalten und dem Organismus jederzeit wieder zur
Verfügung stehen.

Bezüglich der Beziehungen zwischen RES und Krebsabwehr fanden
ACKI u. Mitarb. (1965), daß der Phagocytoseindex K (s.S. 18)
größer ist bei jungen als bei alten Mäusen. Intraperitoneal
verpflanzte Ehrlich-Ascitestumoren zeigten bei den alten
Tieren ein schnelleres Wachstum. KRAUL, M. (1957) berichtet,

daß mit Trypanblau "blockierte" Tiere schwerere Impftumoren haben als die Kontrolltiere.

- 4) Eine Blockade der phagocytierten Zellen ist über längere Zeit nicht möglich. MENE (1953) gibt an, daß das RES 12 Tage nach Tuschesättigung wieder voll funktionstüchtig ist. Auch eine toxische Schädigung der Phagen durch elektrokolloidales Kupfer (v. JANSKO, 1927) wird nach LETTERER (1933) innerhalb weniger Stunden kompensiert, woraus er die große Regenerationskraft des RES ableitet. Auch GABRIELI u. HOLMGREN (1952) sowie BIOZZI, HALPERN, BENACERRAF u. STIFFEL (1954) bestreiten die Möglichkeit einer RES-Blockade und geben an, daß eine ausreichende Zellproliferation innerhalb 24 Stunden stattgefunden habe.
- KELLY, BROWN u. DOBSEN (1962) wiesen Zellteilungen (durch autoradiographischen ^3H Thymidinnachweis) bei Zellen nach, die kurz zuvor Eisenkolloid gespeichert hatten und umgekehrt Phagocytose bei Zellen, die sich gerade geteilt hatten oder in Vorbereitung zur Teilung waren.
- 5) Phagocytosefördernde Serumfaktoren sind Komplement, Properdin, spezifische Antikörper, Alpha₁- u. Betaglobulin (NORMAN u. BENDITT, 1965). Eine Abhängigkeit der Blutclearance von E. coli vom Titer der spezifischen Antikörper beschreiben SPIEGELBERG, MIESCHER u. BENACERRAF (1963). Die Anwesenheit spezifischer AK ist besonders bei kapseltragenden Bakterien bedeutungsvoll, da die Kapseln einen Phagocytoseschutzstoff

darstellen. Opsonine des Blutes bedecken die Bakterienwände und erleichtern die Phagocytose. JENKIN u. ROWERLY (1961) fanden nach Kohleinjektion einen Opsoninschwund und eine verminderte Clearance nach Zweitinjektion von Kohle oder Bakterien. Die Autoren nehmen an, daß ein Opsoninschwund eine RES-Blockade vortäuschen kann.

II. FUNKTIONSPROBEN DES RES =====

Die einzelnen Funktionen des RES wie Phagocytose und Antikörperbildung können als Funktionsproben herangezogen werden. Wir beschränken uns im folgenden auf Phagocytoseversuche.

Phagocytoseversuche:

Für Phagocytoseversuche ergeben sich hauptsächlich 3 Untersuchungsmethoden:

a) Histologie

b) Indirekte Erfassung des RES mittels Blutclearance

c) Direkterfassung des RES durch Messung strahlender Testsubstanzen über einem Speicherorgan

a) Die histologischen Phagocytoseversuche mit sauren Farbstoffen und Kohle dienten hauptsächlich der morphologischen Erfassung des RES; ein moderner Zweig der Histologie ist die Autoradiographie, wie sie für Phagocytoseuntersuchungen zuerst mit Thorotrast durchgeführt wurden.

Da die Histologie nur statische Bilder, aber keine Funktionsabläufe liefert, ging man bald zu

b) Clearanceuntersuchungen über.

Als Testsubstanzen dienten zunächst Farbstoffe (Kongorot, Trypanblau, Evansblue, Karmin) und die größermolekulare Kohle, später Schwermetallkolloide (koll. Gold, Kupfer).

Als erste strahlende Substanz wurde Thoriumdioxid (Thorotrast) angewandt, das später durch radioaktive Isotope (koll. Radiogold, -silber, -yttrium, Chromphosphat, P^{32} -markiertes ~~El~~metaphosphat) verdrängt wurde.

Verteilungsstudien vieler Autoren (POHLE u. RITCHIE, 1934; JONES, WROBEL u. LYON, 1944; DI LUZIO, 1957; SHEPPARD, WELLS, HAHN u. GOODELL, 1947; HESS, 1960), ergaben, daß 90 % Radiogold in der Leber, 8 - 10 % in der Milz, 1 % in der Lunge und 0,07 % in den Nieren abgelagert werden.

Da alle bisher genannten Testsubstanzen anorganischer Natur und daher nicht abbaufähig sind, kann mit ihnen die stoffwechselabhängige Phase der Phagocytose nicht erfaßt werden. Radioaktiv markierte Bakterien (BENACERRAF u. MIESCHER, 1960) erscheinen in dieser Hinsicht geeigneter, sind aber für einen reinen Phagocytosetest nicht neutral genug, da sie den gesamten Abwehrmechanismus in Bewegung setzen. Durch Hitzedenaturierung gewonnene, ¹³¹J-markierte Humanalbuminpartikel sind bei einmaliger Injektion gut verträglich, bei wiederholten Injektionen muß allerdings mit Sensibilisierung gerechnet werden. Als Phagocytosetestsubstanz werden sie seit der Erstanwendung durch BENACERRAF u. Mitarb. (1955) viel verwendet. Verteilungsstudien ergaben auch hier eine überwiegende Anreicherung in der Leber.

Viele Autoren weisen auf die Bedeutung der Teilchengröße hin. Nach NEUKOMM (1957) erstreckt sich der günstigste Bereich von 0,3 - 0,03 µ.

Seit den Versuchen von BENACERRAF, HALPERN, STIFFEL, CRUCHAUD u. BIOZZI (1955) weiß man, daß die Menge der Testsubstanz und damit die Anzahl der injizierten Albuminpartikel eine ausschlaggebende Rolle spielt. Die Autoren prägten deshalb den Begriff der "kritischen Dosis": unterhalb der kritischen

Dosis wird die Organdurchblutung gemessen; oberhalb der kritischen Dosis können die RES-Zellen das Kolloid nicht bei jeder Organdurchströmung völlig aus dem Blut eliminieren. Daher wird die Geschwindigkeit der Reinigung des Blutes von Partikeln nach der Formel:

$$\frac{\log c_1 - \log c_2}{T_2 - T_1} = K \quad \text{angegeben.}$$

c_1 und c_2 = Blutkonzentrationen der Partikel zur Zeit T_1 und T_2 .

Die Konstante K nannten die Autoren "Index granulopexique".

Der Wert von K ist umgekehrt proportional der Partikeldosis: $K \times D = \text{konst.}$

D = Menge der injizierten Testsubstanz

Die Teilchen verschwinden aus dem Blut gemäß einer Exponentialfunktion:

$$c = c_0 \times 10^{-t \times K}$$

Nach etwa 10 - 15 Minuten stellt sich ein Plateau ein, auf dem es sich bis zu einer Stunde hält.

Die Clearancemethode mit ^{131}J -markierten Humanalbuminpartikeln hat nach BENACERRAF folgende Fehler:

- 1) Nach der Sättigung bleibt eine Restaktivität wechselnder Größe im Blut, die abhängig ist vom Gewicht des Tieres, den relativen Organgewichten, der Blutmenge und der Gesamtkapazität des RES.
- 2) Sofort nach der Injektion setzt ein rapider Eiweißabbau ein, wodurch freies Jod ins Blut übertritt und die Clearancewerte

verfälscht. Das freie Jod wird teils von der Schilddrüse abgefangen, teils durch die Niere ausgeschieden. LETTERER lehnte schon 1934 die Clearancemethode als Funktionsprobe des RES ab.

c) Die Methode der Direktmessung über der Leber

wurde von HESS (1960) angegeben.

Durch einen direkt aufgesetzten Scintillationsmesser mit Bleikollimator wird der Aktivitätsanstieg über der Leber nach intravenöser Injektion von ^{131}J -markierten, hitzedesnaturierten Humanalbuminpartikeln mit definierter Teilchengröße und -anzahl gemessen und durch einen Direktschreiber integrierend aufgezeichnet.

Nach Injektion der Testsubstanz tritt innerhalb von 30 - 60 Sekunden ein Durchmischungseffekt ein (DOBSON u. JONES, 1952). Die Aktivität steigt dann in 10 - 15 Minuten zu einem Maximalwert an, den HESS als Sättigungswert des RES ansieht, zumal gleichzeitig entnommene Blutproben in der gleichen Zeit einen exponentiellen Aktivitätsabfall zeigen, bis sich nach 10 - 15 Minuten das Plateau einstellt, das bis zu einer Stunde bestehen bleibt.

In der Auswertung wird die Originalkurve umgeformt, indem auf halblogarithmischem Papier die prozentualen Differenzwerte der Sättigung auf der Ordinate in Abhängigkeit zur Zeit (Abszisse) aufgetragen werden. Es ergibt sich annähernd eine Gerade, deren Steigung die Dynamik der Phagocytoseleistung darstellt.

Anschließend wird der Aktivitätsabfall über der Leber bis zu 48 Stunden gemessen und die Impulszahlen mit dem Maximalpunkt verglichen. Die Entspeicherung zeigt einen biphasischen Verlauf; die gefundenen Werte ordnen sich um zwei Geraden mit verschiedenem Neigungswinkel.

HESS fand mit dieser Methode nach einem Strahleninsult einen beschleunigten Aktivitätsanstieg und einen verlangsamen Aktivitätsabfall im Vergleich zu den Normaltieren.

D. EIGENE VERSUCHE

=====

I. VORVERSUCHE : Leukozytenzählung unter Medikation mit 6-Mercaptopurin und Cortison

Im Vorversuch sollte der Zeitpunkt eventuell auftretender toxischer Medikamentwirkung wie Leukopenie festgestellt werden. Zu diesem Zeitpunkt sollten im Hauptversuch die Phagozytosteste ausgeführt werden. Leukopenie und Thrombocytopenie sind beim Menschen die häufigsten Nebenwirkungen therapeutischer 6-Mercaptopurindosen, auch im Tierversuch wurde Leukopenie nach toxischen Dosen (25 mg/kg) beschrieben. Für Cortison ist Lymphopenie und Eosinopenie charakteristisch.

Bei der Dosierung gingen wir von beim Menschen üblichen Dosen aus. Pro Kollektiv wurden 3 Kaninchen von ca. 3 kg Körpergewicht verwendet.

Dosierungsschema:

=====

	Mensch (70 kg)		Kaninchen (3 kg)	Dauer Appl.
<u>CORTISON</u>	: 150 mg/die	≈	7,5 mg/die	25 x i.m.
(Kristallsusp. Hoechst ^R)	: 300 mg/die	≈	12,5 mg/die	25 x i.m.
<u>6-MERCAPTOPURIN</u>	: 2,5 mg/kg/die =		7,5 mg/die	45 x oral
(Purinethol ^R)	: 5 mg/kg/die =		15 mg/die	35 x oral

Leukopenie trat bei den Tieren nicht auf, relative Lymphopenie sahen wir bei den mit Cortison behandelten Tieren. Wir entschlossen uns, im Hauptversuch höhere Dosen anzuwenden.

II. H A U P T V E R S U C H

=====

1) Vorbehandlung der Tiere:

Die Medikamentwirkung wird für verschiedene Dosierungen an jeweils 5 männlichen Kaninchen gleicher Rasse und gleichen Alters mit einem Durchschnittsgewicht von 3 kg geprüft.

11 unbehandelte Tiere dienten als Kontrollen.

Dosierungsschema:

=====

	Behandlungs- dauer	mg/kg/die	mg/die	Gesamt- dosis	Appl.
	1 x 6h vor Messung	8	25	25	i.m.
CORTISON	9 x	8	25	225	i.m.
(Kristallsusp.	9 x	4	12,5	112,5	i.m.
Hoechst ^R)	18 x	4	12,5	225	i.m.
	1 x 6h vor Messung	50	150	150	oral
6-MERCAPTOPURIN					
* (Purinethol ^R)	7 x	10	30	210	oral
	14 x	5	15	210	oral

*

Purinethol^R-suspension, hergestellt (Rosenapotheke, Marburg) aus:

1250 mg Purinethol^R (= 25 Tabl. à 50 mg)

verdünnter Tragacanthaschleim ad 125

Methylparaben 0,1 %ig als Konser-
vierungsmittel

Die Zufuhr erfolgte mittels Sonde.

2) Methodik:

Für unsere Phagozytoseversuche wandten wir die genannte Direktmethode nach HESS an. Da die Versuche zusammen mit M.BEINKE durchgeführt wurden, verweise ich bezüglich genauerer methodischer Angaben auf deren Inauguraldissertation.

- a) Herstellung der Testsubstanz: Modifizierte Methode nach BENACERRAF u. Mitarb.(1956)

1. Jodierung:

Humanalbumin (Behringwerke) wird mit ^{131}J -markiert, die Lösung anschließend über eine Ionenaustauschersäule (Amberlite IRA 400) gegeben, umfreies Jod zu entfernen. Vor und nach der Austauschersäule Messung von 0,1 ml im Bohrlochkristall; 30 %ige Ausbeute der eingesetzten Aktivität gilt als ausreichend.
Elektrophoretischer Nachweis der Radioaktivität am Albumin.

2. Hitzenaturierung:

Im Wasserbad (70°) bei PH 7,8 der Lösung unter Kontrolle der optischen Dichte (Photometer Eppendorf, 550 m μ). Bei Extinktionswerten von 0,7 - 0,8 sofortiges Abkühlen der Lösung unter 40°C in einem Methanol- CO_2 -Gemisch.

3. Fällung des denaturierten Proteins

am IP (4,6) und dreimaliges Waschen in physiologischer NaCl (PH4,6).

4. Ausmessung der Partikelgröße

im Dunkelfeld ergibt eine GAUSS'sche Verteilungskurve zwischen 2 - 5 μ .

5. Auszählung der Partikelanzahl

in einer Leukozytenzählkammer und Verdünnung der Lösung auf 600.000 Partikel/ml.

6. Einstellen der Injektionslösung auf PH 7,4

7. Zur Entfernung eventuell vorhandener Keime

wurde die Lösung vor der Denaturierung durch einen G₅-Filter gegeben und anschließend mit sterilen Geräten und Lösungen gearbeitet. In das Hygieneinstitut eingesandte Sterilitätsproben waren keimfrei.

b) Versuchsanordnung:

Die Kaninchen werden rücklings auf ein Brett gespannt. Auf eine epilierte Hautstelle über der Leberregion wird ein Scintillationsmesser mit Bleikollimator stets im gleichen Winkel aufgesetzt, um jeweils das gleiche Orgenvolumen zu erfassen.

Der Scintillationsmesser ist kombiniert mit einem Ratemeter, Verstärker, Zeitmesser und Integraltintenschreiber (Gerätekombination nach Hundeshagen).

Nach Injektion von 1 ml der Testsubstanz (= 600.000 Partikel von 2 - 5 μ) in die Ohrvene werden folgende Messungen durchgeführt:

1. Die Blutaktivitäten
.....

der Kontrolltiere werden im Bohrlochkristall gemessen.

Die venösen Blutproben werden nach 1/2, 1 und 5 Min.

und dann in 5-minütlichen Abständen bis zu einer Stunde aus der Ohrvene entnommen.

2. Kontinuierliche Aufzeichnung des Aktivitätsanstiegs
.....

über der Leber bis zu 30 Minuten erfolgt mittels Integraltintenschreiber bei den Kontrolltieren und den behandelten Tieren.

3. Verfolgung des Aktivitätsabfalls
.....

über der Leber durch Impulszählung nach 3, 5, 7, 9, 18, 24 und 48 Stunden.

III. VERSUCHSERGEBNISSE: =====

1. Blutaktivitäten:

Die im Bohrlochkristall gemessene n Impulse/min pro ml Blut werden als Prozente des Ausgangswertes (100 %) aufgetragen. Die Kurven (Abb. 1) bestätigen, daß die Aktivität in den ersten 15 Min. rasch abfällt, und sich dann ein gleichmäßiges Plateau einstellt, das sich bis zu einer Stunde nicht ändert. Das Plateau besagt, daß jetzt keine Blutelimination mehr stattfindet, sondern das RES abgesättigt ist.

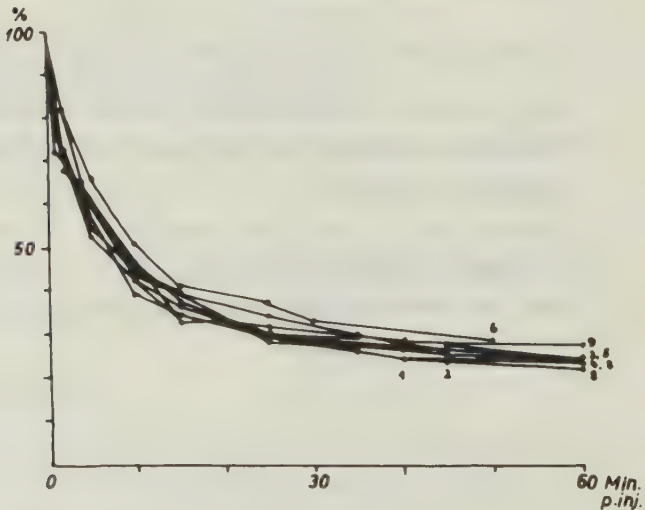


Abb. 1: Abfall der Blutaktivität nach Injektion von denaturiertem ^{131}I -Albumin. Jede Kurve entspricht den Meßwerten eines Tieres.

2. Aktivitätsanstieg über der Leber:

Die vom Direktschreiber gelieferten Aktivitätsanstiegskurven steigen exponentiell zu einem Maximum an, um dann ganz allmählich wieder abzufallen; sie sind demnach ein Spiegelbild der Bluteliminationskurven. Das Aktivitätsmaximum über der Leber ist bei den Kontrolltieren etwa zu dem Zeitpunkt erreicht, wo sich im Blut das Plateau einstellt, das heißt, daß das Aktivitätsmaximum über der Leber als Sättigungswert angesehen werden kann. Der Verlauf der Anstiegskurve, d.h. die Steilheit ihres Anstiegs und der Zeitpunkt der erreichten Sättigung, ist ein Maß für die Geschwindigkeit der Aufnahme von Albuminpartikeln durch das Leber-RES; während die Kurvenhöhe, unter Berücksichtigung der jeweiligen aktuellen Aktivität, ein Maß für dessen Kapazität wäre. Da die Kapazität von Tier zu Tier großen Schwankungen unterworfen ist, beschränken wir uns bewußt, wie auch HESS, auf die Dynamik des RES. Zum besseren Vergleich werden die Originalkurven (Abb. 2)

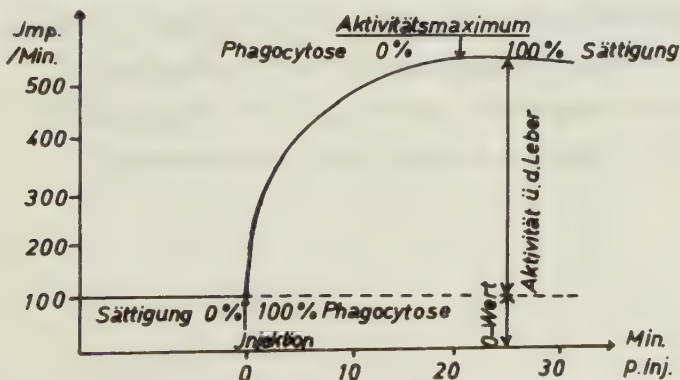


Abb. 2: Aktivitätsanstieg über der Leber nach Injektion von denaturiertem ¹²⁵I-Humanalbumin.

Integrierend aufgezeichnete Originalkurve; Schema

folgendermaßen umgeformt:

Zur Zeit des Aktivitätsmaximums ist die Sättigung 100 % oder die Phagozytose/Zeiteinheit 0 %; dementsprechend ist die Phagozytose gleich post injektionem am intensivsten. Die Originalkurve (Abb. 2) wird zu jeder Minute ausgemessen und die gefundenen Impulse in Prozent Phagozytose umgerechnet. Von 5 Einzeltieren/Kollektiv sowie von 11 Kontrolltieren wird der prozentuale Mittelwert gebildet und der mittlere Fehler der Einzelmessung $\bar{G}$, sowie der mittlere Fehler des Mittelwertes $\bar{G}$ errechnet (Tab. 1 - 8a). Die geringste Streuung findet sich demnach nach 5 - 10 Minuten.

Die Mittelwerte werden auf halblogarithmischem Papier auf der Ordinate in Abhängigkeit zur Zeit (Abszisse) aufgetragen (Kurven 1 - 3a).

Durch die verzerrte Wiedergabe erhält man im mittleren Bereich annähernd eine Gerade, deren Steigung ein Maß ist für die Schnelligkeit der Aufsättigung und damit der Abnahme der Phagozytose.

Als Maß für die Steigung wird der Neigungswinkel der Geraden mit der Abszisse angegeben (Tab. 9a). Die Zeit des erreichten Maximums ist am Schnittpunkt der Geraden mit der Abszisse abzulesen oder den Tabellen zu entnehmen.

Tab. 1a: Phagozytose in Prozent als reziproker Wert der erreichten Sättigung.

Kontrolltiere (Mittelwerte von 11 Einzelmessungen)

Min.	Mittelwerte (%)	σ	σ_M
30"	81,2	$\pm 10,1$	$\pm 3,04$
1'	68,4	$\pm 11,9$	$\pm 3,58$
2	60,8	$\pm 9,35$	$\pm 2,82$
3	51,8	$\pm 11,4$	$\pm 3,42$
4	42,8	$\pm 13,2$	$\pm 3,98$
5	37,8	$\pm 11,8$	$\pm 3,48$
6	32,9	$\pm 9,89$	$\pm 2,89$
7	28,1	$\pm 5,45$	$\pm 1,64$
8	26,2	$\pm 7,05$	$\pm 1,85$
9	23,6	$\pm 6,05$	$\pm 1,83$
10	21,5	$\pm 6,52$	$\pm 1,96$
11	18,8	$\pm 6,24$	$\pm 1,93$
12	17,3	$\pm 6,7$	$\pm 2,02$
13	13,3	$\pm 6,9$	$\pm 2,08$
14	12,1	$\pm 7,15$	$\pm 2,16$
15	10,3	$\pm 5,57$	$\pm 1,68$
16	8,1	$\pm 6,34$	$\pm 1,91$
17	5,9	$\pm 5,3$	$\pm 1,60$

Tab. 2a: Phagozytose in Prozent als reziproker Wert der erreichten Sättigung.

CORTISON, 9x 25 mg/die (Serie I), Mittelwerte von
5 Einzelmessungen

Min. •	Mittelwerte %	σ	σ_M
1	64,4	$\pm 7,68$	$\pm 3,42$
2	45,5	$\pm 7,3$	$\pm 3,68$
3	32,3	$\pm 5,2$	$\pm 2,32$
4	24,3	$\pm 6,5$	$\pm 2,19$
5	17,8	$\pm 6,3$	$\pm 2,81$
6	13,6	$\pm 6,2$	$\pm 2,76$
7	8,8	$\pm 4,5$	$\pm 1,99$
8	6,3	$\pm 3,7$	$\pm 1,63$
9	3,1	$\pm 1,5$	$\pm 0,67$
10	1,9	$\pm 1,5$	$\pm 0,65$
11	0,6	$\pm 1,1$	$\pm 0,49$
12	0,2	$\pm 0,45$	$\pm 0,2$
13	0,01	$\pm 0,25$	$\pm 0,19$

Tab. 3a: Phagozytose in Prozent als reziproker Wert der
erreichten Sättigung

CORTISON 9 x 12,5mg/die (Serie II), Mittelwerte von
5 Einzelmessungen

Min.	Mittelwerte %	σ	σ_M
1	70,5	$\pm 10,25$	$\pm 4,19$
2	45,5	$\pm 10,4$	$\pm 4,25$
3	36,2	$\pm 11,1$	$\pm 4,53$
4	29,2	$\pm 10,5$	$\pm 4,29$
5	19,9	$\pm 5,8$	$\pm 2,38$
6	15,8	$\pm 4,95$	$\pm 2,09$
7	12,8	$\pm 4,09$	$\pm 1,69$
8	10,7	$\pm 4,02$	$\pm 1,64$
9	9,6	$\pm 3,35$	$\pm 1,37$
10	8,1	$\pm 3,57$	$\pm 1,46$
11	7,4	$\pm 3,22$	$\pm 1,31$
12	5,4	$\pm 2,75$	$\pm 1,12$
13	4,6	$\pm 2,53$	$\pm 1,03$
14	3,8	$\pm 2,39$	$\pm 0,98$
15	3,5	$\pm 2,39$	$\pm 0,98$
16	2,5	$\pm 1,78$	$\pm 0,73$
17	1,9	$\pm 1,59$	$\pm 0,65$
18	1,8	$\pm 1,41$	$\pm 0,58$
19	1,1	$\pm 1,48$	$\pm 0,61$
20	0,4	$\pm 1,02$	$\pm 0,42$

Tab. 4a: Phagozytose in Prozent als reziproker Wert der erreichten Sättigung

CORTISON, 18 x 12,5mg/die (Serie III)

Mittelwerte von 5 Einzelmessungen

Min.	Mittelwerte %	σ	σ'_M
1	76,0	$\pm 6,77$	$\pm 3,02$
2	54,2	$\pm 15,4$	$\pm 6,9$
3	36,3	$\pm 13,5$	$\pm 6,02$
4	27,2	$\pm 15,6$	$\pm 6,99$
5	19,4	$\pm 9,98$	$\pm 4,5$
6	14,3	$\pm 7,42$	$\pm 3,3$
7	11,2	$\pm 5,04$	$\pm 2,2$
8	7,9	$\pm 4,06$	$\pm 2,1$
9	6,2	$\pm 4,0$	$\pm 1,8$
10	5,6	$\pm 3,7$	$\pm 1,7$
11	5,2	$\pm 4,2$	$\pm 1,9$
12	3,7	$\pm 3,1$	$\pm 1,4$
13	3,2	$\pm 2,6$	$\pm 1,1$
14	3,0	$\pm 1,2$	$\pm 0,6$
15	2,6	$\pm 1,9$	$\pm 0,8$

Tab. 5a: Phagozytose in Prozent als reziproker Wert der erreichten Sättigung

CORTISON, 1 x 25mg, 6 Std. vor Messung (Serie IV)

Mittelwerte von 5 Einzelmessungen

Min.	Mittelwerte %	σ	σ_M
1	88,0	$\pm 4,42$	$\pm 1,87$
2	70,8	$\pm 12,1$	$\pm 5,43$
3	51,8	$\pm 12,7$	$\pm 5,67$
4	42,9	$\pm 14,5$	$\pm 6,49$
5	34,3	$\pm 10,75$	$\pm 4,7$
6	27,5	$\pm 12,1$	$\pm 5,43$
7	19,6	$\pm 8,57$	$\pm 3,82$
8	14,2	$\pm 7,98$	$\pm 3,56$
9	11,7	$\pm 6,22$	$\pm 2,78$
10	7,9	$\pm 3,79$	$\pm 1,69$
11	5,7	$\pm 4,19$	$\pm 1,87$
12	4,8	$\pm 2,99$	$\pm 1,33$
13	2,6	$\pm 2,36$	$\pm 1,05$
14	2,1	$\pm 2,14$	$\pm 0,96$

Tab. 6a: Phagozytose in Prozent als reziproker Wert der erreichten Sättigung

6-MERCAPTOPURIN, 7 x 10 mg/kg/die (Serie I)

Mittelwerte von 5 Einzelmessungen

Min.	Mittelwerte %	σ	σ_M
1	72,6	$\pm 14,6$	$\pm 6,5$
2	59,9	$\pm 18,75$	$\pm 8,35$
3	31,1	$\pm 5,78$	$\pm 2,57$
4	23,3	$\pm 2,995$	$\pm 1,335$
5	19,0	$\pm 1,345$	$\pm 0,6$
6	15,7	$\pm 1,47$	$\pm 0,656$
7	12,5	$\pm 1,48$	$\pm 0,66$
8	8,7	$\pm 2,165$	$\pm 0,965$
9	5,8	$\pm 3,06$	$\pm 1,36$
10	5,6	$\pm 2,48$	$\pm 1,105$
11	4,1	$\pm 2,18$	$\pm 0,975$
12	3,2	$\pm 2,36$	$\pm 1,05$
13	2,4	$\pm 2,805$	$\pm 1,25$
14	1,9	$\pm 2,04$	$\pm 0,91$
15	1,8	$\pm 1,97$	$\pm 0,88$
16	1,6	$\pm 2,0$	$\pm 0,89$
17	1,3	$\pm 0,97$	$\pm 0,43$
18	0,8	$\pm 0,224$	$\pm 0,1$
19	0,8	$\pm 0,643$	$\pm 0,286$
20	0,5	$\pm 0,078$	$\pm 0,035$

Tab. 7a: Phagozytose in Prozent als reziproker Wert der erreichten Sättigung

6-MERCAPTOPURIN, 14 x 5 mg/kg/die (Serie II)

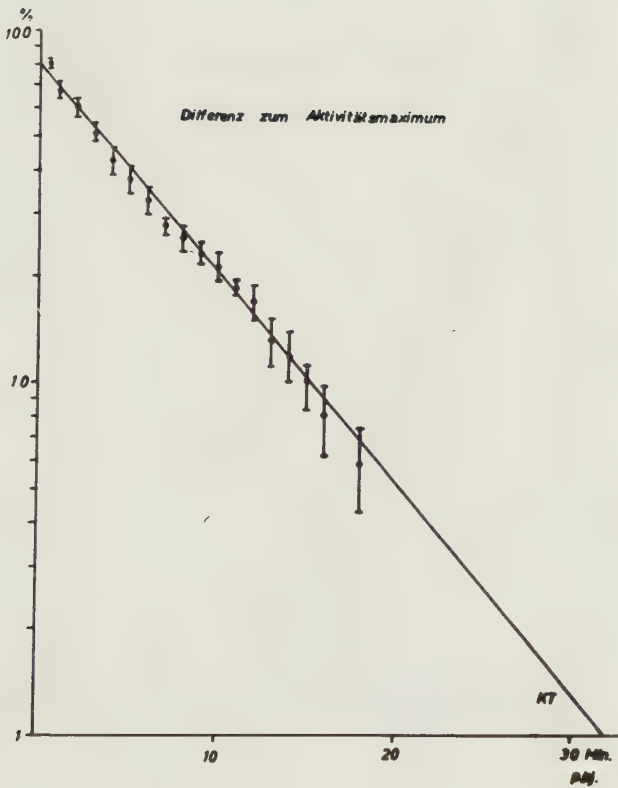
Mittelwerte von 5 Einzelmessungen

Min.	Mittelwerte %	σ	σ_M
1	90,8	$\pm 4,17$	$\pm 1,86$
2	64,5	$\pm 9,06$	$\pm 4,05$
3	52,9	$\pm 8,73$	$\pm 3,9$
4	43,6	$\pm 7,36$	$\pm 3,29$
5	36,3	$\pm 11,7$	$\pm 5,22$
6	29,5	$\pm 7,2$	$\pm 3,2$
7	23,2	$\pm 4,8$	$\pm 2,14$
8	18,2	$\pm 2,94$	$\pm 1,31$
9	14,6	$\pm 2,73$	$\pm 1,23$
10	12,3	$\pm 3,02$	$\pm 1,35$
11	9,4	$\pm 6,71$	$\pm 3,0$
12	7,0	$\pm 8,31$	$\pm 3,7$
13	5,5	$\pm 9,35$	$\pm 4,17$
14	4,2	$\pm 8,88$	$\pm 3,97$
15	2,9	$\pm 7,93$	$\pm 3,54$
16	2,4	$\pm 2,25$	$\pm 1,0$

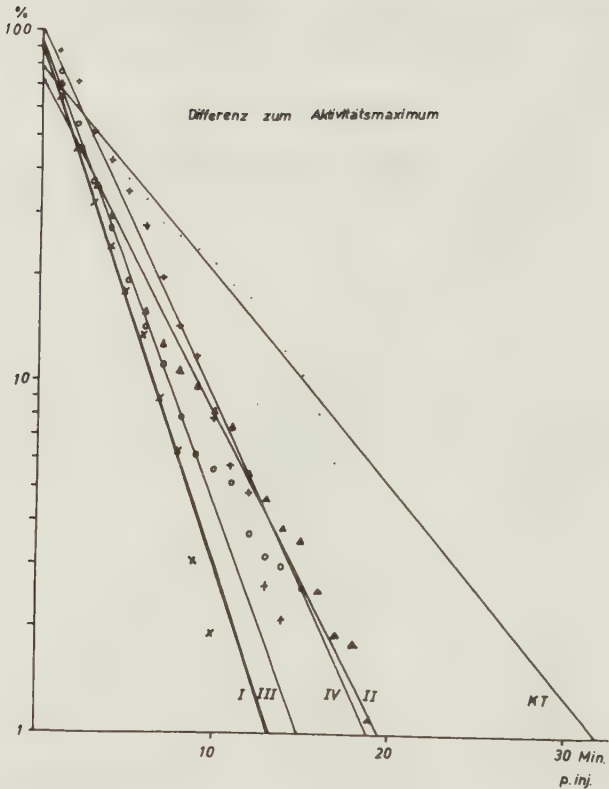
Tab. 8a: Phagozytose in Prozent als reziproker Wert der erreichten Sättigung

6-MERCAPTOPURIN, 1 x 50 mg/kg 6 Std. vor Messung
(Serie III) - Mittelwerte von 5 Tieren

Min.	Mittelwerte %	σ	σ_M
1	80,3	$\pm 6,22$	$\pm 2,77$
2	59,3	$\pm 1,99$	$\pm 0,89$
3	48,7	$\pm 4,4$	$\pm 1,96$
4	36,1	$\pm 4,8$	$\pm 2,15$
5	28,1	$\pm 7,05$	$\pm 3,14$
6	22,6	$\pm 5,92$	$\pm 2,64$
7	19,2	$\pm 6,7$	$\pm 2,99$
8	13,2	$\pm 7,11$	$\pm 3,17$
9	10,4	$\pm 5,49$	$\pm 2,45$
10	7,7	$\pm 4,95$	$\pm 2,21$
11	5,0	$\pm 4,0$	$\pm 1,79$
12	4,4	$\pm 3,44$	$\pm 1,54$
13	4,3	$\pm 2,79$	$\pm 1,24$
14	3,2	$\pm 1,57$	$\pm 0,7$
15	1,7	$\pm 1,99$	$\pm 0,89$
16	1,8	$\pm 1,22$	$\pm 0,55$



Kurve 1a: Phagozytose in Prozent, als reziproker Wert der Sättigung nach Injektion von ^{131}J -markierten Humanalbuminpartikeln.
KONTROLLTIERE, Mittelwerte von 11 Tieren

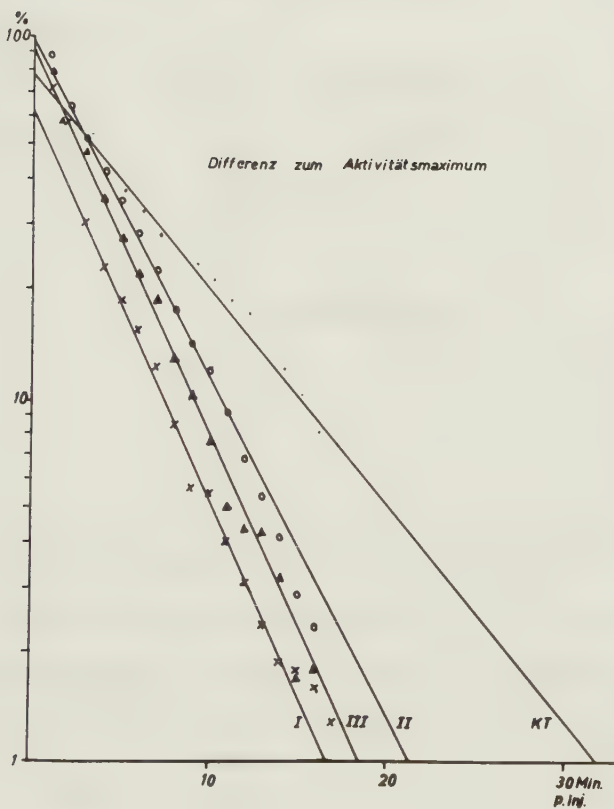


Kurve 2a: Phagozytose in Prozent, als reziproker Wert der erreichten Sättigung nach Injektion von ^{131}J -markierten Humanalbuminpartikeln.

CORTISON-Vorbehandlung:

- I = 9 x 25 mg/die
- II = 9 x 12,5mg/die
- III = 18 x 12,5mg/die
- IV = 1 x 25 mg

6 Std. vor Messung



Kurve 3a: Phagozytose in Prozent, als reziproker Wert der erreichten Sättigung nach Injektion von ^{131}J -markierten Humanalbuminpartikeln.

6-MERCAPTOPURIN-Vorbehandlung: I = 7 x 10mg/kg/die
 II = 14 x 5mg/kg/die
 III = 1 x 50mg/kg
 6h vor Messung

Tab. 9a:

Neigungswinkel $\angle$ der Speicherkurven

		<u>$\angle$</u>	<u>Differenz zum KT</u>
<u>KONTROLLTIERE</u>		50°	
<u>CORTISON</u>	I	71°	21°
	II	63°	13°
	III	69°	19°
	IV	65°	15°
<u>6-MERCAPTOPURIN</u>			
	I	65°	15°
	II	61°	11°
	III	65°	15°

Es zeigt sich, daß die mit Cortison und 6-Mercaptopurin behandelten Tiere das Maximum (= Sättigungspunkt) schneller erreichen, d. h., die Aufnahmefähigkeit nimmt entsprechend rascher ab, was in dem steileren Verlauf der Geraden zum Ausdruck kommt. Die Abweichung vom Normaltier scheint dosisabhängig zu sein.

Um zu sehen, inwieweit die Abweichung der behandelten Tiere vom Kontrolltier (KT) sowie der behandelten Tiere untereinander signifikant ist, wird zur Zeit 10 Min.p.inj. der T-Wert berechnet und die Propabilitas P entsprechend den Freiheitsgraden einer Tabelle entnommen (Tab. 10a).

Tab. 10a: Vergleich der Mittelwerte auf Unterschiedlichkeit
z. Zt. 10 Min. p. inj.

		T	P
<u>CORTISON</u>	I/KT	3,8	< 0,001
	II/KT	5,5	< 0,001
	III/KT	5,75	< 0,001
	IV/KT	5,82	< 0,001
	I/ II	3,88	< 0,001
	I/III	2,07	< 0,05
	I/ IV	3,3	> 0,001
	II/III	1,15	> 0,05
	II/ IV	0,189	> 0,05
	III/ IV	0,989	> 0,05
<u>6-MERCAPTOPURIN:</u>	I/KT	7,06	< 0,001
	II/KT	3,87	< 0,001
	III/KT	4,8	< 0,001
	I/ II	3,85	< 0,001
	I/III	0,885	> 0,05
	II/III	1,84	> 0,05

Die Ergebnisse zeigen:

a) für CORTISON:

Alle behandelten Tiere weichen signifikant von den Kontrolltieren ab, d.h. ihre Speicherkurven verlaufen steiler. Der stärkste Effekt zeigt sich nach der Gabe von 9 x 25 mg Cortison (Serie I), der geringste nach 9 x 12,5 mg (Serie II) und 1 x 25 mg 6 Std. vor Messung (Serie IV). Die Abweichung der Serie I von Serie II und IV ist signifikant. Serie III (18 x 12,5 mg Cortison) verläuft trotz gleicher Gesamtdosis wie Serie I flacher als diese; der Unterschied I/II ist allerdings nicht statistisch gesichert.

b) für 6-MERCAPTOPURIN:

Die mit 6MP behandelten Tiere weichen ebenfalls signifikant von den Kontrolltieren ab.

Der ~~steil~~ste Kurvenverlauf zeigt sich bei einer Dosis von 7 x 10 mg/kg (Serie I), der flachste bei 14 x 5 mg/kg (Serie II), also der gleichen Gesamtmenge. Der Abstand dieser beiden Kurven ist statistisch gesichert. Nach einmaliger Gabe von 50 mg/kg 6 Std. vor Messung (Serie III) verläuft die Speicherkurve ohne signifikanten Unterschied zwischen Serie I und II.

Insgesamt kann also von einer statistisch gesicherten, dosisabhängigen Beschleunigung der Aufsättigung des Leber-RES mit ¹³¹J-markierten Humanalbuminpartikeln, rechnerisch und graphisch dargestellt als Abnahme der Phagozytosefähigkeit, gesprochen werden.

3. Aktivitätsabfall über der Leber:

Die gemessenen Impulse/Min. werden in prozentualer Abhängigkeit vom Sättigungswert (100 %) angegeben und eine Fehlerberechnung durchgeführt (Tab. 1 - 8b).

Die Prozentzahlen werden wieder auf der Ordinate in Abhängigkeit z. Zt. (Abszisse) auf halblogarithmischem Papier aufgetragen. Aufgetragen werden jetzt also Sättigungswerte.

Es zeigt sich, daß sich der Aktivitätsabfall in eine erste raschere (innerhalb der ersten 12 Stunden) und eine zweite langsamere Phase gliedern läßt.

Aus den Meßpunkten lassen sich deshalb zwei sich schneidende Geraden konstruieren (Kurven 1, 2, 3b).

Für beide Geraden werden die Neigungswinkel abgelesen (Tab. 9b).

Schließlich wird die Signifikanz der Abweichung der einzelnen Kurven voneinander nach 48 Stunden errechnet (Tab. 10b).

Tab. 1 - 8b: Aktivitätsabfall über der Leber nach i.v.Inj.
von ^{131}J -markierten Humanalbuminpartikeln

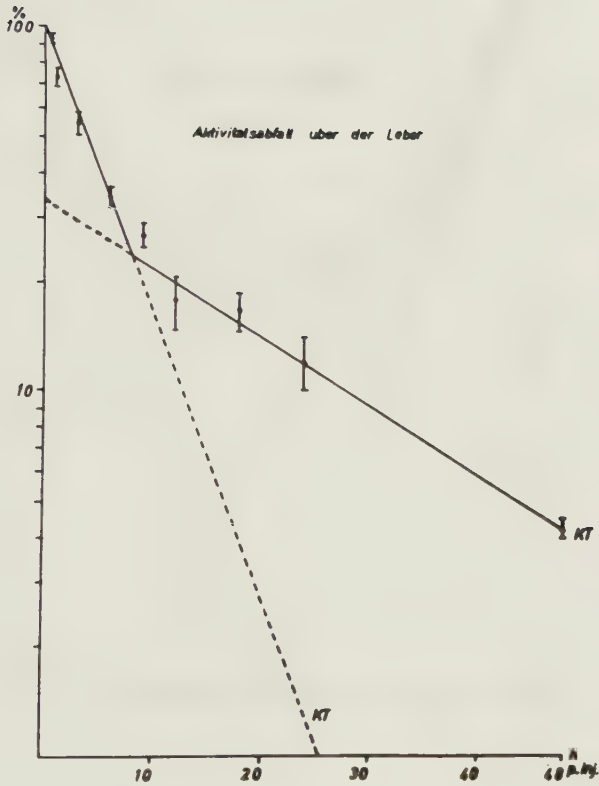
	Std. p.Inj.	Mittelwert % Sättigung	σ	σ_M
<u>Tab. 1b:</u>	1/2	93,3	$\pm 8,3$	$\pm 2,76$
<u>KONTROLLTIERE</u>	1	73,1	$\pm 8,5$	$\pm 3,84$
	3	50,4	$\pm 10,7$	$\pm 3,82$
	6	34,1	$\pm 12,1$	$\pm 4,31$
	9	26,9	$\pm 9,7$	$\pm 3,72$
	12	17,8	$\pm 4,9$	$\pm 2,89$
	18	16,7	$\pm 4,2$	$\pm 2,07$
	24	12,3	$\pm 5,9$	$\pm 1,95$
	48	4,2	$\pm 0,8$	$\pm 0,28$
<u>Tab. 2b:</u>	3	60,7	$\pm 11,9$	$\pm 5,3$
<u>CORTISON I</u>	5	51,2	$\pm 4,6$	$\pm 2,05$
9 x 25mg/die	7	40,6	$\pm 5,3$	$\pm 2,38$
	9	38,7	$\pm 4,5$	$\pm 2,02$
	18	25,6	$\pm 3,0$	$\pm 1,32$
	24	21,1	$\pm 5,3$	$\pm 2,1$
	48	13,3	$\pm 4,5$	$\pm 2,0$

Tab. 1 - 8b: Aktivitätsabfall über der Leber nach i.v.Inj.
von ^{131}J -markierten Humanalbuminpartikeln

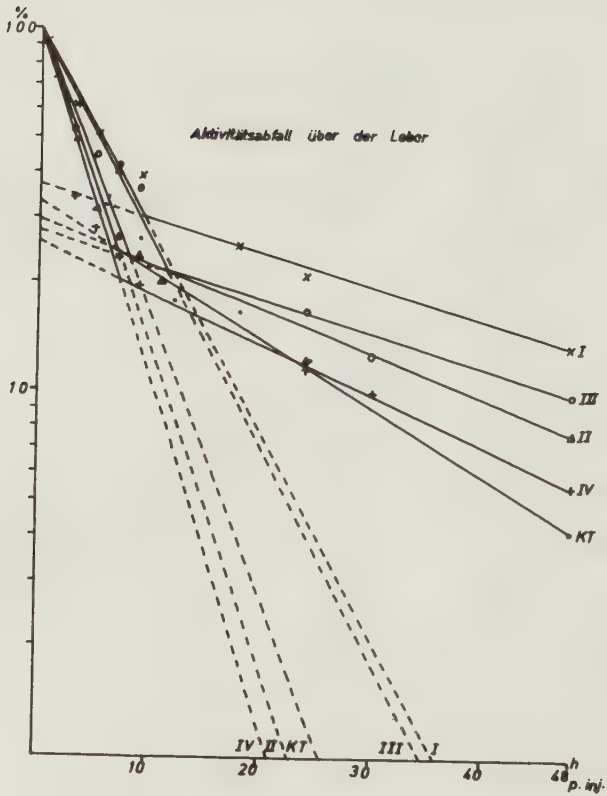
	Std. p.Inj.	Mittelwert % Sättigung	σ	σ_M
<u>Tab. 3b:</u>	3	49,1	$\pm 5,69$	$\pm 2,32$
<u>CORTISON II</u>	5	31,9	$\pm 8,31$	$\pm 3,4$
9 x 12,5mg/die	7	26,9	$\pm 7,68$	$\pm 3,14$
	9	23,6	$\pm 7,68$	$\pm 3,14$
	11	20,6	$\pm 7,4$	$\pm 3,1$
	24	12,4	$\pm 2,8$	$\pm 1,25$
	48	7,8	$\pm 1,28$	$\pm 0,89$
<u>Tab. 4b:</u>	3	51,2	$\pm 8,25$	$\pm 3,68$
<u>CORTISON III</u>	5	44,9	$\pm 3,92$	$\pm 1,75$
18 x 12,5mg/die	7	40,7	$\pm 7,17$	$\pm 3,19$
	9	35,9	$\pm 7,38$	$\pm 3,29$
	24	16,7	$\pm 2,99$	$\pm 1,34$
	30	12,1	$\pm 3,14$	$\pm 1,4$
	48	10,1	$\pm 3,18$	$\pm 1,42$
<u>Tab. 5b:</u>	3	34,2	$\pm 12,6$	$\pm 5,62$
<u>CORTISON IV</u>	5	28,2	$\pm 9,23$	$\pm 4,12$
1 x 25mg 6h vor Messung	7	23,1	$\pm 6,83$	$\pm 3,05$
	9	19,7	$\pm 6,43$	$\pm 2,87$
	24	11,5	$\pm 4,49$	$\pm 2,0$
	30	9,9	$\pm 5,28$	$\pm 2,35$
	48	5,5	$\pm 3,23$	$\pm 1,44$

Tab. 1 - 8b: Aktivitätsabfall über der Leber nach i.v.Inj.
von ^{131}J -markierten Humanalbuminpartikeln

	Std. p.Inj.	Mittelwert % Sättigung	σ	σ_M
<u>Tab. 6b:</u>	3	65,0	$\pm 24,8$	$\pm 11,1$
<u>6-MERCAPTOPURIN I</u>	5	54,2	$\pm 20,13$	$\pm 9,4$
7 x 10mg/kg	7	44,8	$\pm 18,07$	$\pm 8,1$
	9	38,9	$\pm 13,85$	$\pm 6,2$
	18	23,8	$\pm 6,14$	$\pm 2,7$
	24	19,7	$\pm 6,99$	$\pm 3,1$
	48	14,6	$\pm 6,93$	$\pm 3,1$
<u>Tab. 7b:</u>	3	39,7	$\pm 13,3$	$\pm 5,9$
<u>6-MERCAPTOPURIN II</u>	5	33,9	$\pm 14,2$	$\pm 6,3$
14 x 5mg/kg	7	30,9	$\pm 10,4$	$\pm 4,7$
	9	28,7	$\pm 9,96$	$\pm 4,5$
	24	20,0	$\pm 7,87$	$\pm 3,5$
	30	18,2	$\pm 6,11$	$\pm 2,7$
	48	12,6	$\pm 7,15$	$\pm 3,2$
<u>Tab. 8b:</u>	3	33,9	$\pm 6,6$	$\pm 2,9$
<u>6-MERCAPTOPURIN III</u>	5	30,3	$\pm 9,21$	$\pm 4,1$
1 x 50mg/kg 6h vor Messung	7	24,9	$\pm 6,26$	$\pm 2,8$
	9	21,9	$\pm 5,93$	$\pm 2,7$
	24	13,0	$\pm 3,16$	$\pm 1,4$
	30	11,4	$\pm 2,49$	$\pm 1,1$
	48	8,8	$\pm 3,11$	$\pm 1,4$

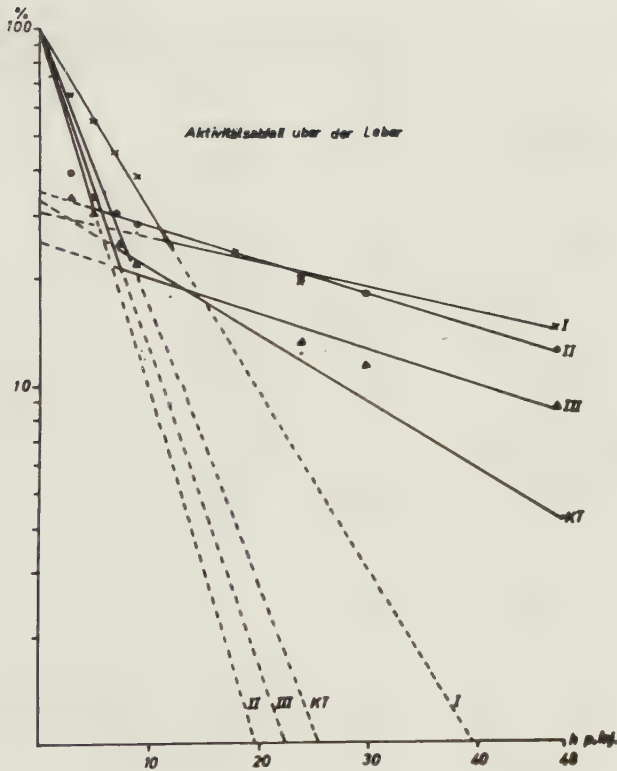


Kurve 1b: Aktivitätsabfall über der Leber nach i.v.Inj.
von ^{131}J -markierten Humanalbuminpartikeln,
angegeben in Prozentwerten der Sättigung.
KONTROLLTIERE, Mittelwerte von 11 Tieren



Kurve 2b: Aktivitätsabfall über der Leber,
angegeben in Prozentwerten der Sättigung

CORTISON-Vorbehandlung: I = 39 x 25 mg/die
II = 9 x 12,5mg/die
III = 18 x 12,5mg/die
IV = 1 x 25 mg/die
6h vor Messung



Kurve 3b: Aktivitätsabfall über der Leber,
angegeben in Prozentwerten der Sättigung

6-MERCAPTOPURIN-Vorbehandlung: I = 7 x 10mg/kg/die
II = 14 x 5mg/kg/die
III = 1 x 50mg/kg
6h vor Messung

Tab. 9b: Neigungswinkel der Entspeicherungsgeraden

		1. Phase	2. Phase	Differenz zum KT
<u>KONTROLLTIERE</u> :		70°	31°	
<u>CORTISON</u>	I :	62°	17°	8° ; 14°
	II :	71°	22°	1° ; 9°
	III :	63°	18°	7° ; 13°
	IV :	72°	25°	2° ; 6°
<u>6-MERCAPTOPURIN</u>				
	I :	59°	13°	11° ; 18°
	II :	74°	17°	4° ; 14°
	III :	71°	18°	1° ; 13°

Tab. 10b: Vergleich der Mittelwerte auf Unterschiedlichkeit
z. Zt. 48 Std. p. Inj.

		T	P
		- - - - -	- - - - -
<u>CORTISON</u>	I/KT	4,5	< 0,001
	II/KT	3,52	< 0,001
	III/KT	4,1	< 0,001
	IV/KT	0,885	> 0,05
	I/ II	2,97	< 0,01
	I/III	1,3	> 0,05
	I/ IV	3,18	< 0,01
	II/III	1,37	> 0,05
	II/ IV	1,48	> 0,05
	III/ IV	2,29	< 0,05
<u>6-MERCAPTOPURIN</u>	I/KT	4,12	< 0,001
	II/KT	2,6	< 0,01
	III/KT	3,22	< 0,001
	I/ II	0,455	> 0,05
	I/III	1,76	> 0,05
	II/III	1,09	> 0,05

Die Ergebnisse zeigen:

a) für CORTISON:

Die Serien I und III entspeichern in beiden Phasen langsamer als die Normaltiere, während die Serien II und IV in der ersten Phase schneller, in der zweiten aber auch langsamer entspeichern.

Nach 48 Stunden ist die Verzögerung der Entspeicherung, verglichen mit den Normaltieren, bei den Serien I, II und III signifikant, bei Serie IV besteht keine Signifikanz.

Die Entspeicherungsverzögerung zeigt die gleiche Dosisabhängigkeit wie bei der beschleunigten Aufsättigung; jedoch ist die Abweichung der behandelten Tiere untereinander nicht statistisch gesichert.

b) für 6-MERCAPTOPURIN:

In der ersten Phase entspeichert nur die Serie I langsamer als die Normaltiere, in der zweiten Phase entspeichern alle drei Serien langsamer, die Abweichung ist jedoch nur bei der Serie I und III statistisch gesichert. Auch hier ist die gleiche Dosisabhängigkeit wie bei der Aufsättigung festzustellen.

IV. DISKUSSION DER ERGEBNISSE: =====

Von der Annahme ausgehend, daß der Vorgang der Phagozytose sich zusammensetzt aus a) den physikalisch-chemischen Vorgängen der Migration und Inkorporierung, welche nicht von der intakten Zellfunktion abhängig sind, und b) der fermentativen, also stoffwechselabhängigen Aufschließung der inkorporierten Substanz, kam für unsere Versuche nur eine abbaufähige Testsubstanz, nämlich hitzedenaturiertes, ^{131}J -markiertes Humanalbumin mit definierter Teilchengröße und -anzahl infrage, denn nur die stoffwechsela bhängige Phase der Phagozytose kann Aufschluß über die Funktion der RES-Zelle geben. Als Methode wählten wir die von HESS angegebene Direktmessung der Strahlung über der Leber.

Nachdem wir uns bei den Kontrolltieren davon überzeugt hatten, daß die Blutaktivität sich nach 15 Minuten auf ein Plateau einstellt, nahmen wir an, daß das RES damit abgesättigt sei, zumal der Aktivitätsanstieg über der Leber zur gleichen Zeit ein Maximum erreicht.

Der Sättigungspunkt (Maximum der Aktivitätsanstiegs-kurve) dient bei der Auswertung als prozentualer Bezugspunkt (0 % Aufnahme = 100 % Sättigung).

Nach Vorbehandlung der Kaninchen mit Cortison und 6-Mercaptopurin fanden wir eine signifikant schnellere Aufsättigung bei einer verlangsamten Entspeicherung im Vergleich zum Kontrolltier.

Die beschleunigte Aufsättigung könnte bedeuten:

- a) Schnelleres Erreichen der Sättigung infolge verminderter RES-Kapazität. Da die Kapazität von Tier zu Tier großen Schwankungen unterworfen ist, sind darüber schwer Aussagen zu machen, so daß die Messung der jeweiligen aktuellen Aktivität und Errechnung der tatsächlich aufgenommenen Menge unterblieb.
- b) Stimulierung zur Phagozytose durch die Medikamente, vorausgesetzt, daß die aufgenommene Menge bei behandelten und Kontrolltieren gleich ist.

HESS (1960), der nach einem Strahleninsult ebenfalls eine schnellere Aufsättigung fand, deutet diese als schnellere Anlagerung infolge veränderter Spannungsverhältnisse zwischen Testsubstanz und Phagozyten infolge Membranschädigung der Zellen.

Daß die Zellen tatsächlich geschädigt sind, ergibt sich aus der verlangsamten Entspeicherung. Die erste, raschere Phase der Entspeicherung deutet HESS hypothetisch als Loslösung relativ locker gebundener Testpartikel, während in der zweiten Phase die fermentative Aufschließung zum Ausdruck komme.

Während die erste Phase nur nach höheren Dosen verzögert ist, ist die zweite Phase bei allen Serien deutlich verlangsamt, so daß also auf eine gestörte Zellfunktion geschlossen werden kann.

Sowohl die beschleunigte Aufsättigung als auch die verlangsamte Entspeicherung sind nach beiden Medikamenten in gleicher Weise dosisabhängig, d.h. die stärkere Dosis hat den größeren Effekt.

V. Z U S A M M E N F A S S U N G D E R E R G E B N I S S E
=====

Nach Vorbehandlung der Kaninchen mit Cortison und 6-Mercaptopurin fanden wir mit der von HESS (1960) angegebenen Aktivitätsmessung über der Leber eine Beschleunigung der Aufsättigung mit ^{131}J -markierten Humanalbuminpartikeln und eine nachfolgende verzögerte Entspeicherung.

Die schnellere Aufsättigung wird gedeutet als raschere Anlagerung und Inkorporierung infolge Membranschädigung, die verzögerte Entspeicherung wird als Ausdruck einer Schädigung der fermentativen Zellfunktion angesehen.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß Cortison und 6-Mercaptopurin die Phagozytose hemmen. Das Ausmaß der Hemmung ist dosisabhängig.

F. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s =====

- ADO, A.D. "Über den Verlauf der ôxydativen und glykolytischen Prozesse in den Leukocyten des entzündeten Gewebes während der Phagocytose"
Z. ges. exp. Med. 87, 473 (1933)
- ALLGÖWER, M. "Die Wirkungen von Calcium und Serum auf die Wanderung von citratgeschädigten menschlichen Leukocyten"
Experimenta (Basel) 5, 405 (1949)

"Über die Wirkung von Heparin, polyanethol-sulfonsaurem Natrium (Liquosid Roche) und tribasischem Natriumcitrat auf menschliche Leukocyten in vitro"
Schweiz. Med. Wschr. 40 (1947)

"Organtransplantation"
M.Kurse ärztl. Fortbild. 2 90 (1966)
- AOKI, T. "Aging and cancerigenesis II.
Effect of age on phagocytic activity of the RES and on tumor growth"
J. Nat. cancer Inst. 34 255 (1965)
- ASCOFF, L. "Das Reticuloendotheliale System"
Ergebn. inn. Med. Kinderheilk. 26, 1 (1924)
- BARGMANN "Histologie und Mikroskopische Anatomie des Menschen" S. 221 - 23
Thieme Verlag, Stuttgart 1959
- BALDRIGE, C.W., R.W. GERARD "The extra respiration of phagocytosis"
Amer. J. Physiol. 103, 235 (1933)
- BECKER, H.J., H. FISCHER zit. nach HOFF 1957 VI^e Congrès de la Société Européenne d'Hématologie 1957
- BARBEA, M., A. DELAUNAY zit. nach CRABBÉ: "Helvet. med. Acta
22, 123 (1955)

- BENACERRAF, G., B.N. HALPERN, G. BIOZZI, S.A. BENOS
 "Quantitative study of the granulopoietic activity of the reticuloendothelial system"
 Brit. J. exp. Path. 35 97 (1954)
- BENACERRAF, G., B.N. HALPERN, S. STIFFEL, D. CRUCHAUD, G. BIOZZI
 "Phagocytose d'une Fraction du Serum chauffé et iodé par le système Réticulo-Endothélial et compartement conscentif de ses cellules à l'égard d'autres colloïdes"
 Ann. Inst. Pasteur (Paris) 89, 601 (1955)
- BENACERRAF, G., P. MIESCHER "Bacterial phagocytosis by RES in vivo under different immune conditions"
 Ann. New York Acad. Sc. 88, 184 (1960)
- BIOZZI, G., G.BENACERRAF, C. STIFFEL, B.N. HALPERN, D. MOUTON
 "Influence de la quantité d'iode fixé sur les protéines sériques normales et modifiées par la chaleur sur la phagocytose de ces colloïdes par les cellules de SRE"
 Ann. Inst. Pasteur 92, 87 (1957)
- BLANCHARD, E.W. physiol. Zool. 4, 302 (1931) zit.n.CRABBE
- BOREL, J. "Effect of 6-mercaptapurine on different classes of antibody"
 J. exp. Med. 122, 263 (1965)
- CRABBE, J. "Der Einfluß des Cortisons auf die phagocytäre Tätigkeit bei Kaninchen"
 Helvet. med. acta 22, 2 123-132 (1955)
- Mc.CUTCHEON, M. "Chemotaxis and locomotion of leukocytes"
 Physiol. Rev. 26, 319 (1946)
- DELAUNEY, A. "L'ion Calcium dans la physiologie du leukocyte"
 Ann. Inst. Pasteur 70, 372 (1944)
- DOBSON, E.L., H.B. JONES "The behavior of intravenously injected particulate marterial"
 Acta med. scand. Zu Bd. 144, Suppl. 273, 1 (1952)

- EHRICH, W.E. "Dynamik und Reizbeantwortung"
Verh. dt. Ges. inn. Med. 62, 163 (1956)
- FREESSEN, O. "Zur Histomorphologie des RES"
Klin. Wschr. 24/25, 100 (1946-47)
- "Die Pathomorphologie des RES"
Verh. dtsch. Ges. Path. 37, 26 (1954)
- "Zur Histomorphologie des RES"
Dtsch. med. Wschr. 85, 2009 (1960)
- FRIEBEL, H. "Über den Einfluß von Cortison auf die Infektabwehr"
Arch. exp. Path. u. Pharm. 216, 514 (1952)
- "Über den Einfluß des Cortisons auf die Behandlung der experimentellen Trypanosomeninfektion mit Trypanblau"
Arch. exp. Path. u. Pharm. 216, 537 (1952)
- "Über den Einfluß des Cortisons auf die Phagocytoseleistung der Makrophagen"
Arch. exp. Path. u. Pharm. 216, 506 (1952)
- FRIMMER, M., K. PFLEGER "Untersuchungen über den Einfluß der Nebennieren auf die Eliminationsfähigkeit des RES für makromolekulare Fremdkörper"
Arch. exp. Path. u. Pharm. 221, 81 (1953)
- FRITZE, E. "Beantwortung bakterieller Reize durch neutrophile Granulozyten"
Verh. dt. Ges. inn. Med. 62, 204 (1956)
- GABRIELI, E.R., H. HOLMGREN "Studies in the blockade of the reticuloendothelial system"
Acta path. microbiol. scand. 31, 205 (1952)
- GAMBLE u. HETTING J. Lab. clin. Med. 40, 801 (1952)
zit. nach CRABÉ: Helvet. med. act. 22, 2
123-132 (1955)
- GORDON, L.E., D.B. COOPER, C.P. MILLER "Clearance of bacteria from the blood of irradiated rabbits"
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 89, 577 (1955)

- HELLER, J.H. "Cortisone and Phagocytoses"
Endocrinology 56, 80 (1955)
- HESS, F. "Studien zur unspezifischen Reaktion des
Organismus gegenüber dem Strahleninsult
und der Geschwulsterkrankung"
Habil. Schrift, Marburg 1960
- HORVATH, E., K. KOVACS, A. BINKÖ "Die Wirkungen des Cortisons auf
die Gewebespeicherung der Methylcellulose"
Arch. exp. Path. u. Pharm. 231, 400, 1957
- INGRAM, D.G. "The production of immune conglutinine⁸
The effect of 6-mercaptopurine and colchicine"
Canad. J. microbiol. 11, 89 (1965)
- "The production of immune conglutinine VII
The effect of cortisone treatment on the
stimulation of immune-conglutinine production
Canad. J. Microbiol. 8, 703 (1962)
- v. JANSKO, W. "Pharmakologische Beeinflussung des RES"
Klin. Wschr. 10, 537 (1931)
- "Die Wirkungen der von Kolloiden absorbierten
Stoffe auf das RES als neuer pharmakologischer
Wirkungstypus."
Z. exper. Med. 56, 135 (1927)
- JAWETZ, E., J.L. MEINIK, E.A. ADELBURG "Medizinische Mikrobiologie"
S. 145, Springer Verlag, Berlin, Göttingen
Heidelberg 1963
- JENKIN, C.R., D.ROWERLEY "The role of opsonins in the clearance of
living and inert particles by cells of RES
J. exp. Med. 114, 1363 (1961)
- JONES, H.B., C.J. WROBEL, W.R. LYONS "A method of distributing
beta-radiation of the reticuloendothelial
system and adjacent tissues"
J. clin. invest. 23, 783 (1944)
- KELLY, L.S., B.A. BROWN, E.L. DOBSON "Cell division and phagocytic
activity in liver RES-cells"
Proc. soc. exp. Biol. and Med. 110, 555 (1962)

- KIYONO "Die vitale Carminspeicherung. Ein Beitrag zur Lehre von der vitalen Färbung mit besonderer Berücksichtigung der Zelldifferenzierung im entzündlichen Gewebe"
Jena 1914
- KRAUL, M.A. "Über die Rolle des RES beim Krebswachstum"
Z. inn. Med. 12, 452 (1957)
- LA PLANTA, E.S., R.M. CONDIE, GOOD "Prevention of secondary immune response with 6-MP"
J. Lab. clin. Med. 59, 542 (1962)
- LETTERER, E. Über die Wirkung von elektrokolloidalem Kupfer auf das RES (I. Mitteilung)
Klin. Wschr. 12, 597 (1933)
- LURIE, M.B. u. Mitarb.: Fed. Proc. 10, 414 (1951)
zit. n. CRABBE: Helvet. med. Acta 22, 123 (1955)
- Di LUZIO, N.R., K.A. SIMON, A.C. UPTON "Effect of x-rays and trypan-blue on reticuloendothelial cells"
Arch. Pathol. 64, 649 (1957)
- MENE, G. "Quantitative Bestimmung der Regenerationsfähigkeit des RES"
Haematologica (Pavia) 37, 627 (1953)
- METSCHNIKOFF, E. "Untersuchungen über die mesodermalen Phagocyten einiger Wirbeltiere"
Biol. Zbl. 3, 560 (1883)
- MIESCHNER, P. "Experimentelle Untersuchungen über die Rolle des RES für die Erythroklasie"
Sonderblatt Strahlentherapie 36, 43 (1956)
- MOESCHLIN, S., R. BAGUENA, J. BAGUENA, M. FORELL "Untersuchungen über den Einfluß von ACTH und Cortison auf tierexperimentelle Immunkörperbildung des Kaninchens"
Helvet. med. acta 19, 351 (1952)
- MUDD, S., M.Mc. CUTCHEON, B. LUCKE "Phagocytosis"
Physiol. Rev. 14, 210 (1934)

- NEUKOMM, S., P.L. LERCH, O. JAILLUT "Physiochemical factors governing
the phagocytic functions of the RES"
Physiopathologie of the RES, Blackwell
Oxford 1957 S. 115
- NÖLLER, H.-G. "Die Speicherung radioaktiver Kolloide
als Funktionsprobe des RES"
Ärzt. Forsch. 10, 373 (1956)
- NORMAN, E.G., E.P. BENDITT "Function of RES II."
Participation of a serum factor in carbon
clearance
J. exp. Med. 122, 709 (1965)
- PREYER, W. "Über amoeboide Blutkörperchen"
Virchow's Archiv 30, 417 (1864)
- v. PHILIPSBORN, E. "Die amoeboide Beweglichkeit der Leukocyten"
Fol. Haematol. 43, 142 (1930)
- POHLE, E.A., G. RITCHIE "Histological studies of the liver,
spleen and bone marrow in rabbits following
the intravenous injection of thoriumdioxyd"
Ann. J. Röntgenol. 231, 512 (1934)
- RAMSEIER, H. "Probleme der Histokompatibilitätstestung
beim Menschen"
MKurse Ärztl. Fortbild. 2, 94 (1966)
- RIBBERT Z. allg. Physiol. 4, 201 (1904)
zit. n. HESS, F. Habil.Schrift Marburg 1960
- ROHR, K. "Das menschliche Knochenmark"
Thieme-Verlag, Stuttgart 1940/49
- SAVSCHENKO, J.G. "Theory of Phagocytosis"
Arch. sc. biol. Petersburg 15, 418 (1910)
- SCHUBOTHE, GROSS Congr. Luisse Soc. Hemat. (1951)
zit. n. ZICKFELD, D.: "Der Einfluß von
Ganzkörper- und Leberbestrahlungen auf die
Funktion des reticuloendothelialen Systems"
Inaug. Diss., Marburg 1963

- SCHWARTZ, STACK, DAMASHEK "Effect of 6-MP on Antibody Production"
Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 99, 164 (1958)
- SCHWARTZ, EISNER, DAMASHEK "The effect of 6-MP on Primary and
Secondary Immune Response"
J. clin. Invest. 38, 1394 (1959)
- SCHWARTZ, DAMASHEK "The Effect of 6-MP on Homograft Reactions"
J. clin. Invest. 39, 9522 (1960)
- SHEPPARD, C.W., E.B. WELLS, P.F. HAHN, J.P.B. GOODELL "Studies of
the distribution of intravenously administered
colloidal sols of manganese dioxide and gold
in human being and dogs using radioactive
isotopes."
J. Lab. clin. Med. 32, 274 (1947)
- SIERACKI, J.C. "The neutrophilic leukocyte"
Ann. New York Acad. Sci. 59, 690 (1955)
- SISS, M. "Biologische und pharmakologische Beein-
flussung der Leukocytenfunktion"
Z. ges. exp. Med. 120, 139 (1953)
- SPAIN, D.M. Science, 112, 335 (1950)
zit. n. CRABBÉ, Helvet. med. acta 22, 123 (1955)
- SPIEGELBERG, H.L., P.A. MIESCHER, B. BENACERRAF "Studies on the Role
of Complement in the Immune Clearance of E.
Coli and Rat Erythrocytes By the RES in Mice"
J. Immunol. 90, 751 (1963)
- TALIAFERRO, W.H. "Modification of the immune response by
radiation and cortisone"
Ann. New York Acad. Sci. 69, 645 (1957)
- TAUBENHAUS, M., AMROMIN J. Lab. clin. Med. 36, 76 (1950)
zit. n. CRABBÉ, Helvet. med. acta 22, 123 (1955)
- TOIVANEN, P. "Complement-fixing antibodies to adenovirus
in rabbits and guinea pigs treated with 6 -MP
or epsilon-animocapronic."
Acta Path. Microbiol. Scand. 63, 221 (1965)

- TULLIS, J.L., D.M. SURGEROR "Phagocytosis promoting-factor of plasma and serum"
Ann. New York Acad. Sci.66, 386 (1956)
- VOLPICELLI, M. Boll. Soc. ital. Biol. spr.27, 1487 (1951)
zit. n. CRABBE, Helvet. med. acta 22, 123 (1955)
- WARDER, A.A., C.A. HARDIN, P. MORGAN "The experimental effect of x-radiation and Cortisone on serumproteins"
Radiation Res. 7, 500 (1957)
- WRIGHT, A.E., L. COLEBROOK "Technique of the treat and capillary glasstube"
London 1921

Lebenslauf

Am 12.1.1939 wurde ich, Lieselotte Blome, als zweites der drei Kinder meiner Eltern Heinrich und Klara Blome, geb. Düsterberg, in Bad Oeynhausen geboren. Mein Vater, von Beruf Sparkassenrendant, ist seit 1943 in Rußland vermißt. Nach der Volksschule (Herbst 1945- Ostern 1950) in Eisbergen, Kreis Minden, besuchte ich von Ostern 1950-56 die Hildburg-Oberschule in Rinteln und von Ostern 1956-59 das Gymnasium Ernestinum in Rinteln, wo ich am 2.3.1959 das Abitur im neusprachlichen Zweig sowie das Kleine Latinum bestand.

Vom Sommersemester 1959 bis Wintersemester 1964/65 studierte ich Medizin in Marburg und Hamburg. In Marburg bestand ich am 29.4.1960 das Vorphysikum, am 30.10.1961 das Physikum und am 14.10.1965 das Medizinische Staatsexamen.

Danach arbeitete ich als Medizinalassistentin auf der Inneren Abteilung des Diakoniekrankenhauses in Wehrda/Marburg vom 1.11.1965-30.4.1966, am Hygieneinstitut in Marburg vom 1.5.-31.7.1966, an der Universitäts-Kinderklinik in Marburg vom 15.8.-30.11.1966 und vom 1.1.-30.6.1967 auf der Chirurgischen Abteilung des St.-Willehad-Hospitals in Wilhelmshaven

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten

in Marburg:

Ammon, Beckmann, Berendes, Bickel, Bock, Braun-Falco, Bücher, Dimroth, Dittrich, Dölle, Eggstein, Exner, Gedigk, Golenhofen, Graul, Gross, Hamm, Hartmann, Hensel, Hess, Heuser, Hildebrandt, Hornung, Huber, Hundeshagen, Jacob, Kessel, Kessler, Knauff, Lang, Linnewek, Löhr, Lübbers, v. Manger-König, Mahr, Martini, Marx, Mattes, Maurath, du Mesnil de Rochemont, H.A. Müller, Niessing, Nieth, Oehmig, Oksche, Petry, Rodeck, Sauer, Schleyer, W. Schmid, H. Schmitz, Schwaiger, Seidel, Siegert, Siess, Spiegelberg, Stein, Straub, Streicher, Vogell, Vogt, Walcher, Wendt, Würtele

In Hamburg:

Bartelheimer, Dietel, Harmsen, Horatz, Jacobi, Kracht, Krauspe, Lassrich, Lindner, Malorny, Mertens, Schäfer, Schubert, Seelemann, Stelzner, Swart, Zukschwerdt

An dieser Stelle danke ich Herrn Prof. Streicher für die Überlassung des Themas.

Herrn Prof. Graul danke ich für das Interesse an der Arbeit und die Überlassung eines Arbeitsplatzes im Isotopenlabor.

Bei Herrn Dr. Joseph bedanke ich mich für Rat und Hilfe in technischen und wissenschaftlichen Fragen.

